

ANTIOXIDANT

Patent Number: JP58198584
Publication date: 1983-11-18
Inventor(s): ENDOU HIROSHI; others: 04
Applicant(s): YAKULT HONSHA KK
Requested Patent: JP58198584
Application Number: JP19820081288 19820514
Priority Number(s):
IPC Classification: C09K15/34
EC Classification:
Equivalents: JP1436983C, JP62045912B

Abstract

PURPOSE: To provide an inexpensive antioxidant which consists of whey batched off from lactobacillus culture liquid using animal milk culture medium and can be used quite safely for cosmetics, food and drink, pharmaceuticals, etc.

CONSTITUTION: The antioxidant consists of whey batched off from lactobacillus culture liquid which employs animal milk culture medium. For improved performance, high-molecular weight substances with a molecular weight of 6,000 or higher are removed from the whey. The whey is obtained by filtration or centrifugal separation of cultured lactobacillus made in the same manner as in the production of conventional lactobacillus drinks, fermented milk, cheese, etc. The antioxidant is added to materials containing substances susceptible to oxidation such as cosmetics, food and pharmaceuticals and serves to prevent their degradation. The antioxidant obtained by removing high-molecular weight substances has good storage stability and improved anti-oxidizing property and produces a stable aqueous solution, emulsion and aqueous organic solvent solution.

Data supplied from the **esp@cenet** database - I2

BEST AVAILABLE COPY

⑩ 日本国特許庁 (JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭58—198584

⑬ Int. Cl.³
C 09 K 15/34
// A 23 D 5/04
A 23 L 3/34
C 11 B 5/00

識別記号

庁内整理番号

7003—4H
6904—4B
7115—4B
6556—4H

⑭ 公開 昭和58年(1983)11月18日

発明の数 2
審査請求 未請求

(全 4 頁)

⑮ 抗酸化剤

国立市谷保6989—2

⑯ 特 願 昭57—81288

⑰ 発 明 者 小山隆子

川崎市多摩区登戸1734

⑱ 出 願 昭57(1982)5月14日

⑰ 発 明 者 市岡稔

⑲ 発 明 者 遠藤寛

八王子市式分方町86—17

八王子市片倉町937—76

⑱ 出 願 人 株式会社ヤクルト本社

⑲ 発 明 者 細谷英雄

東京都港区東新橋1丁目1番19号

日野市百草896—5

⑲ 発 明 者 秋山幸子

⑳ 代 理 人 弁理士 板井一璫

明 細 書

1. 発明の名称

抗酸化剤

2. 特許請求の範囲

- (1) 獣乳培地を用いた乳酸菌培養液から分取された乳清よりなる抗酸化剤。
- (2) 獣乳培地を用いた乳酸菌培養液から分取された乳清より分子量6000以上の高分子量物質を実質的に除去したる抗酸化剤。

3. 発明の詳細な説明

本発明は、化粧品、食品、医薬品など、酸化され易い物質を含有する物品（以下化粧品等という）に添加してその酸化による品質低下を防止するのに有用な、抗酸化剤に関するものである。

周知のように、化粧品等を構成する物質には空気中の酸素によって徐々に酸化されてしまうものがあり、酸化による変質は、その化粧品等の本来の効用あるいは風味を劣化させるだけでなく、ときには皮膚の炎症や食中毒の原因ともなる。したがって、酸化を防止して品質を安定に保つことは、これらの商品を製造する場合、きわめて重要な課題である。酸化

防止は、保存容器や保存条件を遊ぶことによってもある程度まで可能であるが、通常もつとも有効なのは、適当な抗酸化剤を使用することである。すなわち、トコフェロール類、BHT、BHA、没食子酸プロピル等の抗酸化剤を適切に使用することにより、化粧品等の品質安定性は飛躍的に向上し、変質による事故が減少すると共に、流通段階あるいは使用中の変質によりやむなく廃棄するといった無駄もほとんどなくなる。

しかしながら、種々の化学物質の発ガン性が確認されるにつれて、化粧品等の抗酸化剤についても一層安全性の高いものを使用することが要望されるようになった。

ところで本発明者らは、獣乳を培地とする乳酸菌培養液により得られた培養液についての研究の過程で、上記培養液から分離された乳清が、1,1-ジフェニル-2-ピクリルヒドラジル(DPPH)フリーラジカルを還元し、リノール酸などの不飽和脂肪酸の過酸化を抑制する作用を有する物質を含むことを見いだした。そしてこの還元性物質が、未精製の乳清の状態でも化粧品等の抗酸化剤として使用可能なことを確認し、本発明を完成するに至ったのである。

すなわち本発明は、獣乳培地を用いた乳酸菌培養液から分

取された乳清よりなる抗酸化剤（以下第1発明による抗酸化剤という）および脱乳培地を用いた乳酸菌培養液から分取された乳清より分子量6000以上の高分子量物質を実質的に除去してなる抗酸化剤（以下第2発明による抗酸化剤という）を提供するものである。

本発明の抗酸化剤の有効成分は、現在までに確認された結果によれば、次のような性質のものである：

- (a) 90%エタノールに可溶；
- (b) 限外濾過で分子量6000以下の画分に現われる；
- (c) 強酸性陽イオン交換樹脂に吸着され、2N・アンモニア水で溶出される；
- (d) ニンヒドリン反応陽性；
- (e) 紫外部約275nmに最大吸収スペクトルを持つ；
- (f) Bio-Gel P-2によるゲル濾過における挙動から、分子量は約1000以下と思われる；
- (g) 遊離のアミノ酸ではない；
- (h) 蛋白分解酵素プロナーゼ処理で抗酸化性が著しく低下する；
- (i) 酸加水分解により、アスパラギン酸、スレオニン、セリン、グルタミン酸、プロリン、グリシン、アラニン、バリン、メチオニン、イソロイシン、ロイシン、チロシン、フェニルアラニン、リジン、ヒスチジンおよびアルギニンを生じる。

の誘導期間とは、過酸化物定量のためのロゲン鉄法（満田ら：『栄養と食糧』第19巻第3号第60頁）における吸光度が過酸化物の生成にともない増加して0.3に達するまでの日数である。

第1表

抗酸化剤およびその濃度		誘導期間 (日)
無添加		2
SE-2	18.5 mg%	3.6
SE-2	7.4 "	1.0
SE-2	2.96 "	1.5
SE-2	5.92 "	17.3
VE	6.5 μM	8.1
VE	9.8 "	10.3
VE	3.3 "	17.1
BHT	0.5 μM	2
BHT	1 "	2.7
BHT	5 "	9
BHT	10 "	18
BHT	20 "	29
SE-2 2.96 mg% + VE 6.5 μM		6.2

リン、メチオニン、イソロイシン、ロイシン、チロシン、フェニルアラニン、リジン、ヒスチジンおよびアルギニンを生じる。

以上により、本発明の抗酸化剤の有効成分は、一群の、分子量が約1000またはそれ以下のペプチド鎖物質からなるものと思われるが、それがなぜ抗酸化性を示すのか、理由は定かでない。しかしながら、抗酸化性の強さ、およびその抗酸化性がプロナーゼ処理により低下すること、などを考慮すると、少なくとも、構成アミノ酸の一部が持つ還元性基に依存するような単純なものでないことは確かである。

次に本発明の抗酸化剤の抗酸化能を、実測値を示して説明する。

第1表は、後記実施例1において製造された第2発明の抗酸化剤・SE-2がリノール酸の自動酸化を抑制する能力を、酢酸DL-α-トコフェロール（VEと略記）およびブチル化ヒドロキシトルエン（BHTと略記）のそれと比較した試験結果を示す。試験は、濃度500mMのリノール酸エタノール溶液1.0ml、pH7.0の0.1Mリン酸緩衝液10ml、エタノール9ml、精製水5mlおよび抗酸化剤の混合液を36℃で暗所に放置して過酸化物の生成量を追跡したもので、表中

図1は、上記試験におけるリノール酸過酸化物の量（500nmの吸光度）の経時的な変化を示すグラフである。

これらの試験結果から、本発明の抗酸化剤は、それ単独でも十分な抗酸化能を示すがα-トコフェロールと併用するときは相乗効果により一層顕著な効果を奏することがわかる。

本発明の抗酸化剤は、すでに述べたように、脱乳培地を用いた乳酸菌培養液から分取された乳清そのもの、またはその処理物よりなるが、これを製造する場合、上記乳清は、通常の乳酸菌飲料、発酵乳、チーズ等を製造する場合と同様にし得られた乳酸菌培養物から濾過または遠心分離によつて分取すればよく、特殊なものとは必要としない。しかしながら、第2発明の抗酸化剤とするための処理、あるいはその後さらに必要に応じて行う精製処理を容易にするためには、培地として牛乳の脱脂乳を主成分とするものを用いた乳酸菌培養によるものが望ましい。また乳酸菌としては、ストレプトコッカス・サーモフィラス、ラクトバチルス・カゼイ、同アシドフィラス、同ブルガリクス等が、培養容易で抗酸化能の高い乳清を与え、しかも培養液から乳清を分離する処理も容易なので、特に好ましい菌種である。

乳清は、そのまま、あるいは適宜減圧下に濃縮して、第1

発明の抗酸化剤として使用することができる。

第2発明の抗酸化剤を製造するには、第1発明の抗酸化剤つまり乳清に、分子量が6000以上の高分子量成分を実質的に除去し得る処理を施す。処理方法は特に限定されないが、実施容易な方法としては、限外濾過法、および90%アルコール溶液にしてその上清を分取する方法がある。

分子量が6000、特に20000をこえるような高分子量の乳清成分は、濃度、pH、あるいは抗酸化剤として使用された場合の条件によつては、凝集して沈殿することがある。このような高分子量成分が除去されている第2発明の抗酸化剤は、保存性がよいだけでなく、ほとんどすべての水系、乳化系または含水有機溶媒系の使用状態において安定であるから使用し易く、抗酸化能もすぐれている。

第2発明の抗酸化剤は、乳清から分子量が6000以上の成分だけでなく、分子量が約2000~6000のペプチド系物質、その他抗酸化能とは無関係な乳清成分（たとえば塩類、香気成分など）が除去されたものであつても差支えなく、むしろ、そのようにしたものは抗酸化能と使い易さの点で一層すぐれたものである。このような、高度に“精製”された抗酸化剤を得る方法としては、例えば乳清から分子量が

フィラスを接種し、37℃で72時間培養した。培養終了後、培養液を濾過して乳清（第1発明の抗酸化剤；以下SE-1という）800mlを得た。次にSE-1の一部を、分画分子量が6000の限外濾過膜を用いて濾過し、膜透過成分（第2発明の抗酸化剤；以下SE-2という）を採取した。SE-2の一部は更に水溶液の状態で強酸性陽イオン交換樹脂・アンバーライトIR-120B（H形）を充填したカラムに流し、その後、カラムに2N-アンモニア水を流して溶出される成分（第2発明の抗酸化剤；以下SE-3という）を捕集した。

以上の処理によつて得られた3種類の抗酸化剤の固形物としての収量（SE-2およびSE-3の場合は乳清の全量を処理したとして換算した値）、限外濾過およびイオン交換樹脂処理における抗酸化能回収率（SE-1の段階での抗酸化能の総量を100とする）、および比抗酸化能（SE-1の抗酸化能を1とする）は第2表のとおりであつた。但し抗酸化能の評価は、リノール酸の酸化を抑制する能力を調べる前記方法により行なつた。

約6000以上の成分を除去したのち、あるいは最初から約2000~6000の範囲内の任意の分子量を分画分子量としてそれよりも高分子量の成分を除去したのち、強酸性陽イオン交換樹脂（H形）に吸着させ、次いでアルカリ性の水で溶出される成分を捕集する方法がある。

本発明の抗酸化剤は、以上のように抗酸化能がすぐれているだけでなく、脱乳を乳酸発酵させたものから化学的な処理を一切施すことなく分離操作のみにより製造されるものであるから、化粧品、飲食品、医薬品等に用いる抗酸化剤としては、安全性の点でまったく心配がない理想的なものである。また飲食品製造分野ですでに確立されている乳酸発酵技術を利用して容易に、且つ安価に製造することができる。本発明の抗酸化剤は水溶性であるが、乳化または可溶化状態の油脂に対しても有効であるから、特に油脂を用いた化粧品、食品、医薬品等に、単独で添加し、または α -トコフェロールなど他の抗酸化剤と共に添加して、過酸化脂質の生成を抑制するのに適したものである。

以下実施例を示して本発明を説明する。

実施例 1

脱脂乳1000mlを殺菌後、ストレプトコッカス・サーモ

第 2 表

抗酸化剤	収量(g)	抗酸化能回収率(%)	比抗酸化能
SE-1	4.3	(100)	(1)
SE-2	3.7	100	1.2
SE-3	0.6	64	4.6

4. 図面の簡単な説明

図1は本発明の抗酸化剤がリノール酸の自動酸化を抑制する能力を他の公知の抗酸化剤のそれと共に示したグラフである。

代理人 弁理士 板 井 一 雄

圖 1

